



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 199 53 339 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
A 61 K 38/00

⑳ Aktenzeichen: 199 53 339.3
㉔ Anmeldetag: 5. 11. 1999
㉕ Offenlegungstag: 17. 5. 2001

DE 199 53 339 A 1

㉑ Anmelder:
Goldham Pharma GmbH, 86441 Zusmarshausen,
DE

㉒ Vertreter:
Behrens und Kollegen, 81541 München

㉓ Erfinder:
Frank, Artur, 86441 Zusmarshausen, DE; Jordan,
Karl, 89335 Ichenhausen, DE; Hiebl, Wilfried, Dr.,
89081 Ulm, DE

⑤⑥ Entgegenhaltungen:
DE 27 35 712 A1
WO 98 52 593 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Secretinfragmente

⑤⑦ Es werden bestimmte Secretinfragmente beschrieben,
die sich besonders zur Diagnostik und Behandlung von
Autismus eignen.

DE 199 53 339 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung bestimmter Secretinfragmente bei der Diagnostik und Behandlung bzw. Prävention von Autismus und autismusähnlichen Erscheinungen.

- 5 Sekretin ist ein Hormon, das durch die Mucosa des Duodenums und Jejunums abgeschieden wird. Die Aminosäuresequenz des Secretins ist bekannt und entspricht im Dreibuchstabencode dem Folgenden:

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-

10 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Glu-Gly-Ala-Arg-

10 11 12 13 14 15 16 17 18

15 Leu-Gln-Arg-Leu-Leu-Gln-Gly-Leu-Val-NH₂

19 20 21 22 23 24 25 26 27

Die stereochemische Konfiguration der nativen Version ist bei jedem der optisch aktiven Aminosäurereste L.

- 20 Sekretin stimuliert die pankreatische Sekretion von Wasser und Bicarbonat. Im Magen stimuliert Secretin die Pepsinsekretion und inhibiert insbesondere die durch Nahrungsmittel stimulierte Gastrinfreisetzung.

In jüngster Zeit ist verschiedentlich berichtet worden, dass Secretin als Therapeutikum bei der Behandlung von Autismus eingesetzt werden kann, wobei vorzugsweise an die intravenöse Verabreichung von hohen Secretindosen gedacht wird (vgl. insb. WO 98/52593).

- 25 Autismus ist eine relativ tiefgreifende Entwicklungsstörung, der komplexe Störungen des zentralen Nervensystems zugrundeliegen – insbesondere im Bereich der Wahrnehmungsverarbeitung – und die bereits im Kindesalter beginnt. In ihrem Zentrum steht eine schwere Beziehungs- und Kommunikationsstörung. Die Auswirkungen der Störung behindern auf vielfältige Weise die Beziehungen zur Umwelt, die Teilnahme am Leben in der Gemeinschaft und die Fähigkeit zur Eingliederung in die Gesellschaft, da sowohl kognitive als auch sprachliche, motorische, emotionale und interaktionale Funktionen betroffen sind.

- 30 Dazu kommen zahlreiche Verhaltensauffälligkeiten, die besonders für die Bezugsperson im alltäglichen Umgang mit den autistischen Menschen sehr belastend sein können. Autistische Menschen sind in der Regel mehrfach behindert.

Nach der internationalen Klassifikation der Erkrankungen der Weltgesundheitsorganisation werden, neben dem frühen Beginn, folgende Kennzeichen als Definitionsmerkmale für insbesondere frühkindlichen Autismus genannt:

- 35 1. Qualitative Beeinträchtigungen der zwischenmenschlichen Beziehungen;
2. Beeinträchtigungen in der Kommunikation und der Fantasie;
3. Ein deutlich eingeschränktes Repertoire von Aktivitäten und Interessen.

- 40 Beispielsweise beobachtet man bei Kindern mit Autismus, dass diese zunächst keine Geste, kein Lächeln, kein Wort verstehen. Diese Kinder können zu anderen Personen, selbst zu den eigenen Eltern, kein normales Verhältnis herstellen.

Anders ausgedrückt, diese Kinder ziehen sich in sich zurück und kapseln sich "autistisch" ab. Andererseits kann aber jede Veränderung in der Umwelt der Kinder zu starken Erregungen führen. Kinder mit Autismus können insbesondere nicht "normal" spielen und sie benutzen ihr Spielzeug oft in immer gleicher zweckentfremdeter Art und Weise, wobei sie Stereotypen entwickeln: z. B. Drehen und Kreiseln von Rädern, Rieseln mit Sand, Wedeln mit Fäden oder Papier usw.

- 45 Die wichtigsten Symptome der autistischen Störung sind in ihrem Ausprägungsgrad jeweils unterschiedlich. Menschen mit Autismus haben häufig vom Säuglingsalter an Probleme beim Essen und Schlafen und entwickeln selbststimulierende Verhaltensweisen. Solche Verhaltensweisen können sogar zu Eigenverletzungen führen. Insbesondere wird beobachtet, dass Autisten zwanghaft auf ganz bestimmte Ordnungen bestehen. Viele Autisten haben auch kein Gefahrenbewusstsein.

- 50 Die intellektuelle Begabung von Menschen mit Autismus ist sehr unterschiedlich. Sie reicht von geistiger Behinderung bis zu normaler Intelligenz, wobei einige Autisten erstaunliche Teilleistungen im Rechnen, in technischen Disziplinen, in der Musik und auf anderen Gebieten erbringen können.

- Trotz umfangreicher Forschungen gibt es bislang noch kein schlüssiges Erklärungsmodell, das vollständig und überzeugend die Entstehungsursache der autistischen Störung belegen kann. Nach dem heutigen Stand ist Autismus nicht
55 wirklich heilbar.

Allerdings wird in der zuvor erwähnten WO 98/52593 berichtet, dass die Behandlung autistischer Kinder mit Secretin vielversprechend ist. Dieses Dokument behauptet insbesondere einen Zusammenhang zwischen bestimmten gastrointestinalen Fehlfunktionen bei autistischen Kindern und dem Einfluss von Secretin auf Hirnzellen.

- 60 So wird beispielsweise festgehalten, dass Secretin sowohl bei der Behandlung gastrointestinaler Fehlfunktion bestimmter Autismusformen bei Kindern erfolgreich ist. Insbesondere zeigt sich bei der Behandlung autistischer Kinder mit chronischer Diarrhö, dass es nach einer Injektion von Secretin zu einer beträchtlichen Steigerung der Flüssigkeitsproduktion durch den Pankreas kam. Bei weitergehenden klinischen Untersuchungen wurden dann auffällige Verhaltensverbesserungen festgestellt. Die Verabreichung des Secretins führte aber nicht zu einer Steigerung der Eigenproduktion, sondern es wurde eine vermehrte Serotoninproduktion festgestellt.

- 65 Neben diesen Befunden ist aber nicht bekannt, was die Wirksamkeit des Secretins tatsächlich ausmacht, d. h. welche Mechanismen involviert sind bzw. welche Wechselwirkungen oder Sekundärwirkungen (beispielsweise Serotoninausschüttung) für die beobachteten Wirkungen verantwortlich sind.

Herauszustellen ist in diesem Zusammenhang, daß im Stand der Technik bei der Autismusbehandlung lediglich das

Peptid mit mindestens 27 Aminosäurebausteinen eingesetzt wurde. Die Verwendung von Fragmenten gleich welcher Größe wird nicht erwogen.

Es ist allgemein anerkannt, dass Fragmente eines größeren Peptids mit pharmakologischen Wirkungen nicht zwangsläufig wieder gleiche oder auch nur ähnliche pharmakologische Eigenschaften haben. So wird in der DE 27 35 712 A1 berichtet, dass ein bestimmtes Secretinfragment mit mindestens 14 Aminosäuren wertvolle pharmakologische Eigenschaften haben soll, weshalb sich dieses Fragment beispielsweise als gastrisches antisekretorisches Mittel eignen soll. Im Zusammenhang mit der Darstellung dieses Fragments wurde aber auch festgehalten, dass diese spezielle Wirksamkeit überraschend sei, da man keinerlei biologische Wirksamkeit für Fragmente des Secretins allgemein erwarten konnte.

Es wurde nun überraschend festgestellt, daß Fragmente des Secretins, gleich welcher Herkunft (Mensch, Schwein, Huhn, Affe), die 4–15 Aminosäurebausteine des aus 27 Aminosäuren bestehenden nativen Secretins aufweisen, eine besondere Eignung in einer Präparation zur Behandlung oder Prävention des Autismus haben. Diese Beobachtung ist in mehrfacher Hinsicht überraschend, da einerseits von den Fragmenten generell keine pharmakologische Wirksamkeit zu erwarten war und andererseits eine spezielle Wirksamkeit bei der Behandlung des Autismus überraschend ist.

Bevorzugt werden insbesondere solche Fragmente des Secretins, die 4–6 Aminosäurebausteine der nativen Aminosäuresequenz aufweisen.

Ganz besonders bevorzugt werden bestimmte Fragmente des Secretins, die im übrigen nicht mit den in der DE 27 35 712 A1 beschriebenen Fragment übereinstimmen. Diese Fragmente werden im Folgenden unter deren Abkürzungen (A), (B), (C), (D), (E), (F) und (G) näher beschrieben.

Diese Peptidfragmente des Secretins haben jeweils die folgende Aminosäuresequenz:

His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe (A)

His-Ser-Asp-Gly-Thr (B)

His-Ser-Asp-Gly (C)

Leu-Leu-Gln-Gly-Leu-Val (D)

Leu-Gln-Gly-Leu-Val (E)

Gln-Gly-Leu-Val (F) und

Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Gly-Ala-Arg-Leu-Gln-Arg (G)

Die stereochemische Konfiguration von jedem der optisch aktiven Aminosäurereste kann unabhängig voneinander D, L oder DL sein, wobei bevorzugt wird, dass diese jeweils L ist.

Die Aminosäuresequenz ist von links nach rechts vom N-Terminus zum C-Terminus hin angegeben.

Gegenstand der Erfindung ist somit eine pharmazeutische Zusammensetzung, die mindestens ein Peptidfragment, ausgewählt aus der Gruppe (A), (B), (C), (D), (E), (F), und (G) umfasst. Selbstverständlich können aber auch Mischungen der vorstehend genannten Peptide vorliegen, beispielsweise Mischungen der Peptide (A), (B), (C), (D), (E), (F), und (G), insbesondere die Mischungen (A), (B) oder (A), (C) oder (B), (C) oder (A), (B), (C), (D) oder (B), (C), (D), (E) oder (C), (D), (E), (F) usw..

Das aus 15 Aminosäureeinheiten bestehende Peptid (G) kann um 1–3 Aminosäuren am C-Terminus oder N-Terminus verkürzt werden, ohne daß es zu einer wesentlichen Einschränkung der Wirksamkeit kommt. Als ein erfindungsgemäßes Peptid wird deshalb auch das folgende Fragment angesehen:

Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Gly-Ala-Arg-Leu.

Gegenstand der Erfindung sind aber auch Peptidfragmente, die sich aus der Aminosäuresequenz des Sekretins beim Schwein ergeben. Diese Sequenz entspricht im Dreibuchstabencode dem Folgenden:

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Glu-

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Asp-Ser-Ala-Arg-

10 11 12 13 14 15 16 17 18

Leu-Gln-Arg-Leu-Leu-Gln-Gly-Leu-Val-NH₂

19 20 21 22 23 24 25 26 27

Das Schweinesekretin unterscheidet sich vom menschlichen Sekretin dadurch, daß in den Aminosäurepositionen 15 und 16 andere Aminosäuren vorliegen (Asp und Ser). Erfindungsgemäße Peptidfragmente sich somit auch solche Peptide, die den Aminosäurepositionen 1 bis 4, 1 bis 5 und 1 bis 6 bzw. 22 bis 27, 23 bis 27 und 24 bis 27, sowie 7 bis 21 der vorstehenden Sequenz entsprechen.

Die erfindungsgemäßen Fragmente können in einfacher Weise aus dem natürlich vorkommenden Secretin menschlicher oder tierischer Herkunft gewonnen werden. Daneben bietet sich aber auch der Aufbau der Peptidkette aus den einzelnen Bausteinen an. Verfahren zum Aufbau von Peptiden sind allgemein geläufig, beispielsweise mittels eines automatischen Peptidsynthetisators. Verfahren zur Herstellung solcher Peptide werden unter anderem in der DE 27 35 712 A1 offenbart.

Neben den Peptiden der vorstehend gezeigten Sequenzen (A) bis (G) eignen sich für die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zwecke selbstverständlich allgemein verträgliche Säureadditionssalze. Diese Säureadditionssalze können sich von einer Vielzahl von anorganischen und organischen Säuren ableiten wie beispielsweise Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Jodwasserstoffsäure, Salpetersäure, Sulfaminsäure, Zitronensäure, Milchsäure, Brenztraubensäure, Oxalsäure, Maleinsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Zimtsäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Benzoesäure, Salicylsäure, Gluconsäure, Ascorbinsäure und verwandte Säuren, die zum Zwecke der Bildung pharmazeutisch verträglicher Säureadditionssalze allgemein bekannt sind.

Die erfindungsgemäßen Präparationen können auf verschiedenstem Weg verabreicht werden, beispielsweise intravenös aber auch oral, intramuskular, intraartikular, intradermal, subkutan, rektal sowie durch Inhalation oder nasale Verabreichung.

Übliche Dosierungen der erfindungsgemäßen Verbindungen sind 1 bis 1000 µg/kg (Körpergewicht) pro Tag.

- 5 Es bietet sich auch an, die erfindungsgemäßen Verbindungen mit anderen pharmazeutischen Trägerstoffen zu kombinieren, beispielsweise mit solche Stoffen, die zu einer verzögerten Freisetzung im Körper führen.

Patentansprüche

- 10 1. Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend mindestens ein 4–15 Aminosäuren umfassendes Peptidfragment des Secretins.
 2. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Peptid 4–6 Aminosäuren umfaßt.
 3. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der vorstehenden Ansprüche enthaltend mindestens ein Peptid
 15 der folgenden Formel:
 His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe (A)
 His-Ser-Asp-Gly-Thr (B)
 His-Ser-Asp-Gly (C)
 Leu-Leu-Gln-Gly-Leu-Val (D)
 20 Leu-Gln-Gly-Leu-Val (E)
 Gln-Gly-Leu-Val (F) und
 Thr-Ser-Glu-Leu-Ser-Arg-Leu-Arg-Glu-Gly-Ala-Arg-Leu-Gln-Arg (G)
 4. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie zumindestens ein Peptid der Peptide (A), (B) und (C) enthält.
 25 5. Zusammensetzung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie zumindest ein Peptid der Peptide (D), (E) und (F) enthält.
 6. Zusammensetzung nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die stereochemische Konfiguration der Aminosäurereste der Peptide jeweils L ist.
 7. Zusammensetzung nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die oder das Peptid als Säureadditionssalz vorliegen.
 30 8. Verwendung zumindest eines Peptids wie in einem der vorstehenden Ansprüche definiert zur Behandlung von Autismus.